

## Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungen</b> .....	<b>7</b>
<b>1 Einleitung</b> .....	<b>10</b>
1.1 Die Familie der Herpesviridae .....	10
1.1.1 Morphologische Gemeinsamkeiten der Familie der Herpesviridae.....	10
1.1.2 Biologische Gemeinsamkeiten der Familie der Herpesviridae.....	10
1.1.3 Klassifizierung der Herpesviridae.....	12
1.2 Die Unterfamilie der $\gamma$ -Herpesvirinae.....	12
1.2.1 Biologie.....	12
1.2.2 Epidemiologie .....	13
1.2.3 Latenz von $\gamma$ -Herpesviren .....	13
1.3 Equine Herpesviren.....	14
1.3.1 Equine $\alpha$ -Herpesviren .....	14
1.3.1.1 Das Equine Herpesvirus Typ 1 und das Equine Herpesvirus Typ 4 .....	14
1.3.1.2 Das Equine Herpesvirus Typ 3 .....	16
1.3.2 Equine $\gamma$ -Herpesviren .....	16
1.3.2.1 Das Equine Herpesvirus Typ 2 .....	17
1.3.2.2 Das Equine Herpesvirus Typ 5 .....	17
1.4 Das Equine Herpesvirus Typ 2.....	17
1.4.1 Biologie.....	17
1.4.2 Epidemiologie .....	18
1.4.3 Immunantwort auf EHV-2 Infektionen.....	20
1.4.4 Klinische Relevanz.....	21
<b>2 Zielsetzung</b> .....	<b>26</b>
<b>3 Material und Methoden</b> .....	<b>27</b>
3.1 Chemikalien-, Gebrauchsmaterialien- und Gerätenachweis .....	27
3.1.1 Chemikaliennachweis .....	27
3.1.2 Gebrauchsmaterialien- und Gerätenachweis .....	27
3.2 Testgruppen.....	29
3.3 Viren und Zellen .....	29
3.3.1 Zellkulturen .....	30
3.3.2 Virusvermehrung.....	31
3.3.3 Virustitration.....	31
3.3.4 Isolierung und Reinigung von DNA aus Virionen.....	32
3.4 Serologische Tests.....	34
3.4.1 Neutralisationstest (NT) .....	34

3.4.2 Indirekter Immunfluoreszenztest (IFT).....	35
3.5 Gewinnung und Bearbeitung von mononukleären Zellen des peripheren Blutes (PBMC).....	36
3.5.1 Isolierung von equinen PBMC.....	36
3.5.2 DNA-Isolierung aus PBMC.....	36
3.6 Gewinnung und Bearbeitung von Tupferproben .....	37
3.6.1 Gewinnung von Tupferproben.....	37
3.6.2 Isolierung von DNA aus Tupferproben .....	37
3.7 Gewinnung und Bearbeitung von <i>post-mortem</i> -Geweben .....	38
3.7.1 Gewinnung von <i>post-mortem</i> -Geweben.....	38
3.7.2 Isolierung von DNA aus <i>post-mortem</i> -Geweben .....	38
3.7.3 Aufarbeitung von Kammerwasserproben .....	39
3.8 Virusnachweis in Tupferproben, PBMC und Geweben.....	39
3.8.1 Kokultivierung von PBMC und Cytobrushproben .....	39
3.8.2 Polymerase Kettenreaktion (PCR) .....	40
3.8.2.1 $\beta$ -Aktin-PCR zur Überprüfung der DNA-Qualität .....	41
3.8.2.2 IL-10-nPCR zum Nachweis von EHV-2.....	42
3.8.2.3 gB-nPCR und gB-PCR zum Nachweis von EHV-2 und EHV-5 .....	43
3.9 Virus-Spezifikation .....	43
3.9.1 Restriktionsenzymanalyse (REA).....	43
3.9.2 Analytische Gelelektrophorese.....	43
3.10 Statistische Methoden.....	44
3.10.1 $\chi^2$ -Vierfeldertest auf Unabhängigkeit.....	44
3.10.2 McNemar-Test .....	45
<b>4 Ergebnisse.....</b>	<b>46</b>
4.1 Systematische Untersuchungen von augenkranken und gesunden Equiden aus der Klinik für Pferde (TiHoHa) .....	47
4.1.1 Einleitung.....	47
4.1.2 Zusammensetzung der Test- und Kontrollgruppe.....	48
4.1.3 Ergebnisse der klinischen Allgemeinuntersuchungen und der ophthalmologischen Untersuchungen .....	48
4.1.4 Nachweis von EHV-2 in den verschiedenen Tupferproben und in PBMC mittels nPCR.....	49
4.1.4.1 Ergebnisse der EHV-2-nPCR-Untersuchungen von Cytobrush- und Wattetupferproben bei Test- und Kontrollgruppe zur Erst- und Zweituntersuchung.....	49

4.1.4.2 Vergleich der Nachweishäufigkeit von EHV-2 in Wattetupfer- und Cytobrushproben.....	54
4.1.4.3 Ergebnisse der EHV-2-nPCR-Untersuchungen von Nasentupfern und PBMC bei Test- und Kontrollgruppe zur Erst- und Zweituntersuchung .....	57
4.1.4.4 Nachweis von EHV-2 im Auge bei EHV-2-positiver Nasentupferprobe .....	60
4.1.4.5 Vergleich der unterschiedlich großen nPCR-Amplifikate (Teil-Genom-Vergleich).....	60
4.1.5 Isolierung von EHV-2 aus Cytobrushproben und PBMC .....	62
4.1.5.1 Ergebnisse der Kokultivierung .....	63
4.1.5.2 Spezifizierung und weitere Untersuchung der Isolate.....	64
4.1.5.2.1 Biologische Untersuchungen der Isolate.....	65
4.1.5.2.2 Molekularbiologische Untersuchungen der Isolate .....	65
4.1.6 Serologischer Nachweis von EHV-2-spezifischen Antikörpern .....	68
4.2 Untersuchungen zum Gewebetropismus von EHV-2.....	70
4.2.1 Einleitung.....	70
4.2.2 Ergebnisse der Untersuchungen mittels nPCR .....	70
<b>5 Diskussion.....</b>	<b>74</b>
5.1 Untersuchungen auf EHV-2 bei augenkranken und gesunden Equiden .....	74
5.1.1 Durch Herpesviren verursachte Augenerkrankungen.....	74
5.1.2 Test- und Kontrollgruppe.....	75
5.1.3 Probennahme .....	76
5.1.4 Untersuchungen bezüglich des Zusammenhanges zwischen EHV-2-Nachweis mittels nPCR in den verschiedenen Proben und einer Augenerkrankung .....	77
5.1.5 Vergleich der Nachweishäufigkeit von EHV-2 mittels nPCR in Cytobrush- und Wattetupferproben .....	81
5.1.6 Vergleich der Nachweishäufigkeit von EHV-2 mittels nPCR in den einzelnen Proben bei Erst- und Zweituntersuchung .....	82
5.1.7 Ergebnisse der Kokultivierung von EHV-2 .....	83
5.1.8 Ergebnisse der serologischen Untersuchungen auf EHV-2-spezifische Antikörper .....	88
5.1.9 Genetische Heterogenität von EHV-2 .....	88
5.2 Untersuchungen von <i>post-mortem</i> -Gewebe auf EHV-2.....	91
5.3 Ausblick .....	93
<b>6a Zusammenfassung.....</b>	<b>95</b>
<b>6b Summary .....</b>	<b>97</b>
<b>7 Literaturverzeichnis .....</b>	<b>99</b>
<b>8 Anhang.....</b>	<b>122</b>

8.1 Detaillierte Zusammenstellung der Untersuchungsergebnisse .....	123
8.2 Liste der eigenen Veröffentlichungen .....	130
8.3 Lebenslauf .....	131
8.4 Danksagungen .....	132
8.5 Selbständigkeitserklärung .....	134